

图 12 非甲戊二羟酸合成途径
Fig. 12 Non-mevalonic acid pathway

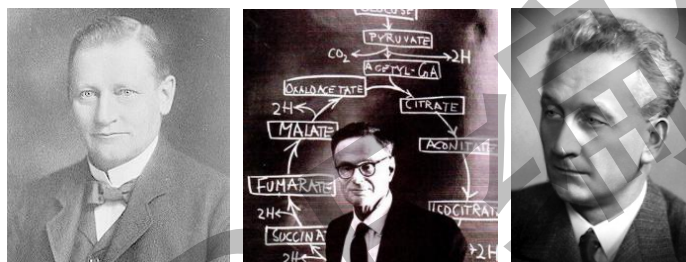


图 13 Albrecht Kossel, Hans Adolf Krebs 和 Albert Szent-Györgyi (从左到右)
Fig. 13 Albrecht Kossel, Hans Adolf Krebs, and Albert Szent-Györgyi (from left to right)

三羧酸循环以循环中一个重要中间体柠檬酸 (citric acid) 命名, 亦称作柠檬酸循环 (citric acid cycle, CAC), 因柠檬酸本身是一种三元羧酸 (tricarboxylic acid), 因此称为三羧酸循环。该循环是 1937 年由德裔英国生物化学家 Hans Adolf Krebs (1900—1981, 图 13) 发现, 因而也被称为 Krebs cycle^[30-31]。因此, Krebs 获得 1953 年诺贝尔生理学或医学奖。早在 20 世纪 30 年代, 匈牙利生物化学家 Albert Szent-Györgyi (1893—1986, 图 13) 就因阐明了 CAC 中的一个重要中间体延胡索酸 (fumaric acid) 的研究, 获得了 1937 年诺贝尔生理学或医学奖。

葡萄糖经糖酵解 (glycolysis) 产生的丙酮酸 (pyruvic acid) 经过丙酮酸脱氢酶系氧化, 生成乙酰辅酶 A 后, 与由苹果酸 (malic acid) 生成的四碳二元羧酸草酰乙酸 (oxaloacetic acid) 缩合, 生成柠檬酸, 进入 CAC。随后, 经过一系列反应, 2 个碳原子转化为二氧化碳 (CO₂) 分子, 柠檬酸中蕴藏的化学能释放转化至还原的辅酶中。CAC 的终产物仍

然是草酰乙酸, 这使得该循环能源不断地氧化输入循环的乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 既可通过脂肪酸的 β-氧化生成, 也可以作为脂肪酸的前体合成脂肪酸 (图 14)。

5 遗传学引导的天然产物生物合成研究

通过研究天然产物的生物合成能够了解这些千变万化的小分子在自然界是怎样形成的。天然产物生物合成的研究大致经历了 3 个阶段: 第 1 阶段主要是在 20 世纪初到 50 年代之间, 是根据结构特点结合化学性质提出生源假说, 如醋酸假说、异戊二烯规则等; 第 2 阶段是在 20 世纪 50 年代到 80 年代, 主要是通过同位素标记前体喂饲实验来确定生物合成途径, 这一阶段的研究使得生物合成的研究从假说变成可通过实验验证的科学, 此后又发展出了刺激实验法、洗涤菌丝法、无细胞提取液转化、遗传诱变等方法来确定生物合成途径; 第 3 个阶段主要是 20 世纪 80 年代以后, 结合现代分子遗传学方法和生物化学的方法来具体地研究天然产物的生物合成, 即 modern genetic-guided 生物合

成研究。一般以英国 John Innes Centre 的 David Alan Hopwood 于 1984 年在《自然》(Nature) 发表成果为标志^[32], 将天然产物与对应的生物合成基因联系起来, 这方面尤以聚酮合酶 (PKS) 和诺娜基二磷酸合酶 (NPPS) 类化合物的生物合成机制研究最为突出, 近年来已经取得了重大的突破, 期间还发展出了组合生物合成、全生物合成等新的研究方向^[33-34]。

6 生物合成研究的意义

6.1 有助于天然产物的结构鉴定

在 NMR 和 X-ray 衍射技术高度发展的今天, 二者的应用虽然已显得无足轻重, 但在 1950 年以前还很重要, 是天然产物结构推测的重要手段。若在 1920 年以前就搞清了胆固醇和甾体化合物的生物合成途径, 1928 年诺贝尔化学奖获得者 Reinhold Windaus (1876—1959) 关于胆固醇的错误结构就可能避免 (图 15)。

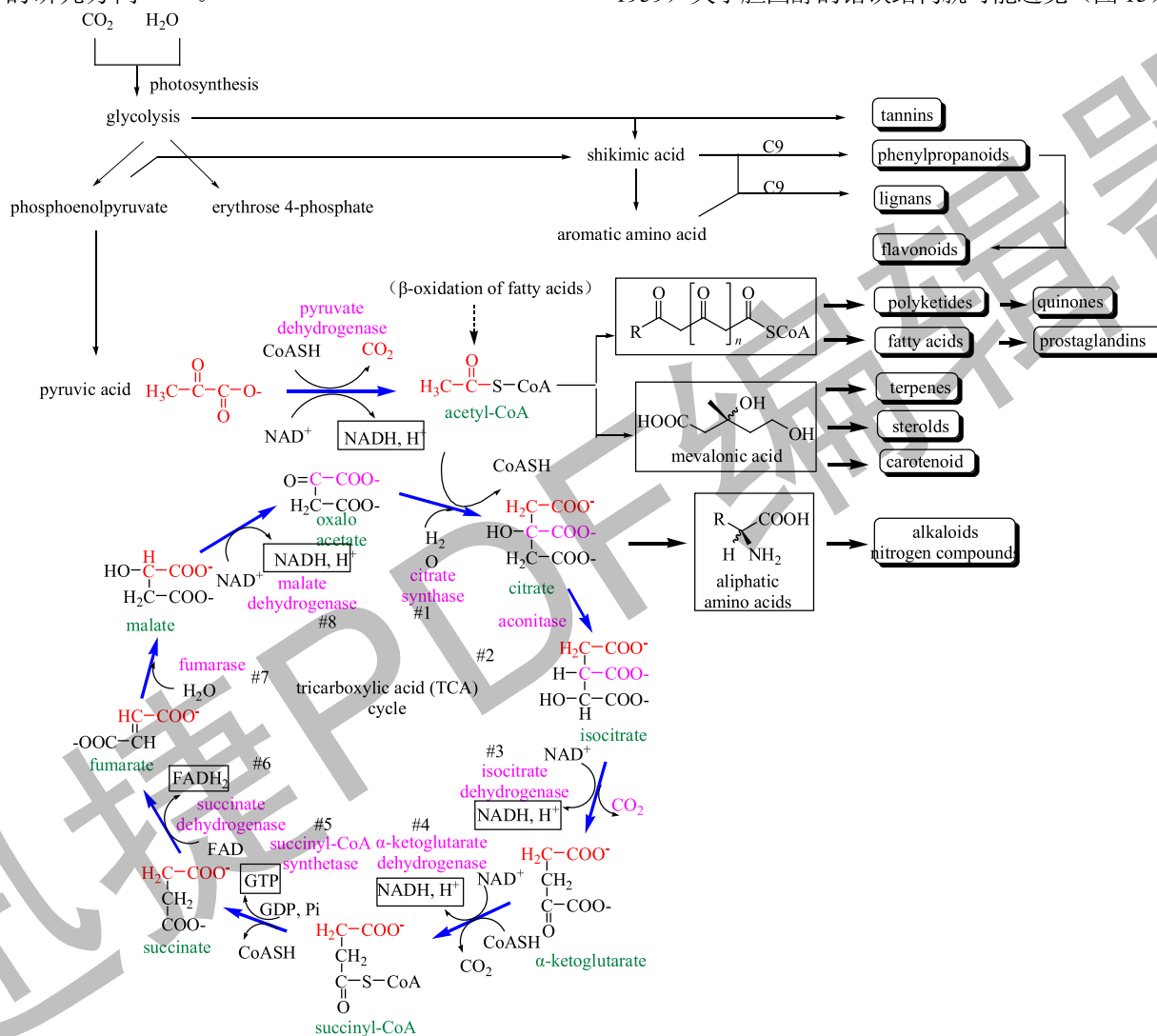


图 14 CAC 得到的一级及二级代谢产物

Fig. 14 Primary and secondary metabolites from CAC

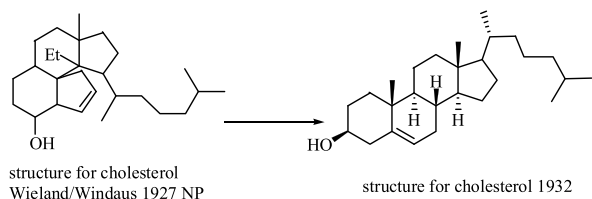


图 15 胆固醇最初确定的结构及正确的结构

Fig. 15 Original structure of cholesterol and corrected one

6.2 有助于天然产物的仿生合成 (biomimetic synthesis)

在一个天然产物的生物合成途径被阐明后, 按照其生源合成途径, 模仿合成步骤对其进行化学合成的方法称之为仿生合成。仿生合成为生源假说提供真实的证据。1917 年 Robert Robinson (1886—1975) 利用曼尼希反应 (Mannich) 进行的第一次仿生合成颠茄碱 (又称阿托品) 标志着仿生合成的开始^[35] (图 16)。

20 世纪 50~70 年代是甾体化合物研究的辉煌时代，继 Woodward 和 Carl Djerassi 合成可的松后，20 世纪 50 年代，哥伦比亚大学 Gilbert Stork (1921—2017, 图 17)、瑞士化学家苏黎世联邦理工学院 Albert Eschenmoser (1925—) 和斯坦福大学的 William Summer Johnson (1913—1995, 图 17) 等人在胆固醇生物合成的基础上，提出一个多烯环合的假说^[36]。20 世纪 70 年代哥伦比亚大学 Ronald Charles D. Breslow (1931—2017, 图 17) 提出了仿生化学的概念^[37-41]。William Summer Johnson 博士把甾体化合物的全合成推向了极致，采用巧妙的仿生合成方法完成了孕甾酮 (progesterone) 的全合成，这是天然产物全合成历史上的一个里程碑^[42-43] (图 18)。英国 Nottingham 大学的 Gerald Pattenden (1940—, 图 17) 发明了用一步反应合成甾体化合物 4 个环和 7 个手性中心的简易巧妙方法^[44] (图 19)。1992 年加利福尼亚大学 Clayton H. Heathcock 等人依据仿生合成原理合成了虎皮楠生物碱 (daphniphyllum alkaloid) dihydro-proto-daphniphylline^[45-46]，在烯醇化合物合成中的立体选择性做了大量研究^[47-49]。他们采用甲酰化的角鲨烯经曼尼希反应，环合、水解合成得到 dihydro-proto-daphniphylline，合成路线见图 20。诺贝尔化学奖得主，哈佛大学的

Corey，在 1997 年首次报道了运用仿生方法立体选择性地合成了 scalarane 型二倍半萜类化合物达马烷二烯醇 (dammaranediol)^[50] (图 21)。二倍半萜类化合物是海洋萜类天然产物中的一个大家族，在陆生植物中极其少见，其结构主要有 3 种类型：manoalide 型、hyrtiosane 型和 scalarane 型。其中 scalarane 型最为常见，具有很好的抗肿瘤、抗感染活性。土楠酸类化合物结构中虽然有很多不对称中心，但整个分子是消旋的，因此人们设想这类化合物在生物合成的前几步是由一系列非手性的非酶的电环合反应中产生的。这一设想在 1982 年被 Nicolaou 所证实^[51]。在相当温和的条件下，经过土楠酸 (endiandric acid) 串联反应生成了土楠酸 A~C (图 22)。

6.3 有利于定向合成所需的天然产物——从青霉素到头孢霉素

青霉素 (penicillin) 和头孢霉素 (cephalosporin) 的共同特点是它们都含有 β -内酰胺环 (β -lactam)，这两类抗生素约占了整个抗生素市场的 65%^[52]。它们在结构上有许多相似之处，均由类似的母核与侧链组成。所不同的是青霉素环合的是五元环噻唑啉环 (thiazolidinic ring)，而头孢霉素环合的是六元二氢噻唑啉环 (dihydrothiazolidinic ring)。头孢霉素不易被青霉

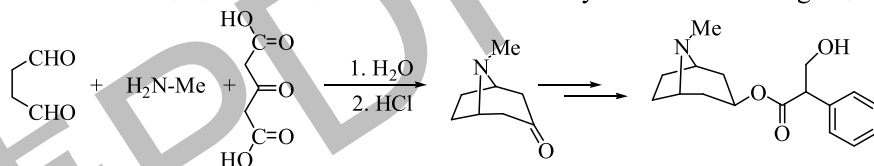


图 16 阿托品的仿生合成

Fig. 16 Biomimetic synthesis of atropine



图 17 Gilbert Stork、William Summer Johnson、Ronald Charles D. Breslow 和 Gerald Pattenden (从左到右)

Fig. 17 Gilbert Stork, William Summer Johnson, Ronald Charles D. Breslow, and Gerald Pattenden (from left to right)

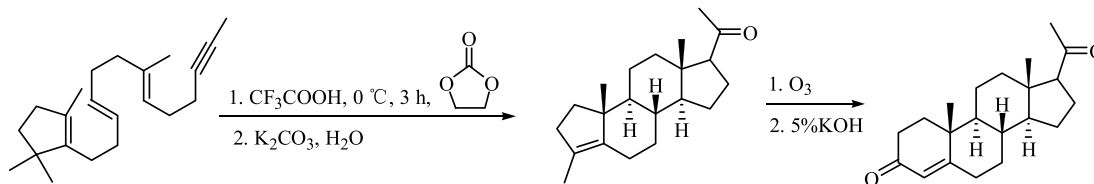


图 18 孕甾酮的仿生合成

Fig. 18 Biomimetic synthesis of progesterone

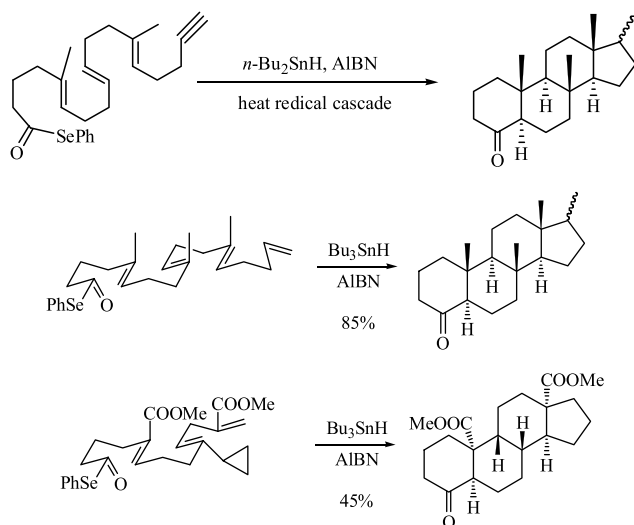


图 19 甾体母核的一步合成

Fig. 19 Synthesis of steroid skeleton for one step

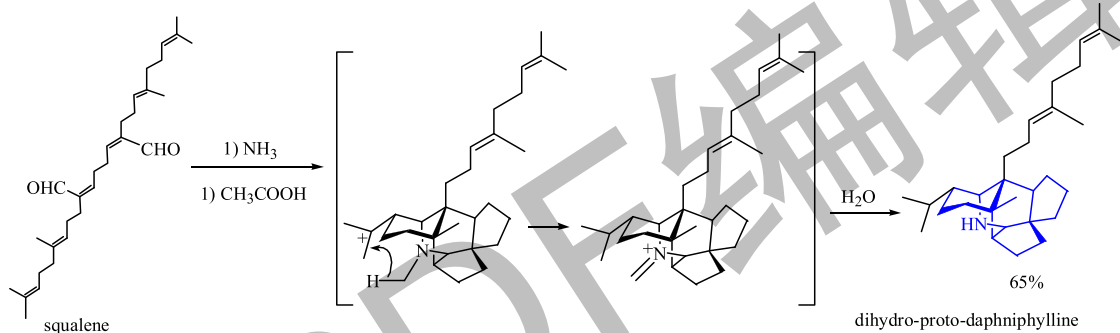


图 20 虎皮楠生物碱 dihydro-proto-daphniphylline 仿生合成

Fig. 20 Biomimetic synthesis of dihydro-proto-daphniphylline

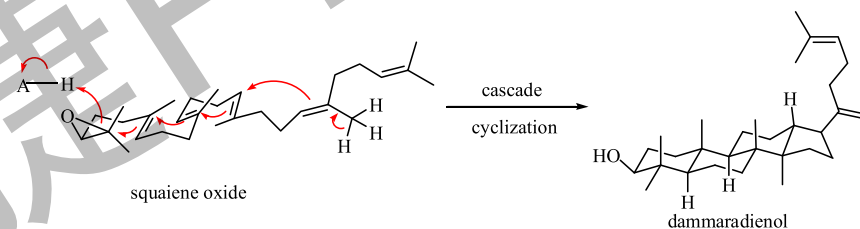


图 21 达马烷二烯醇的仿生合成

Fig. 21 Biomimetic synthesis of dammaradienol

素酶 (penicillinase) 降解, 因此, 与青霉素相比, 不易产生耐药性^[53-54]。很早以前就发现, 在使用青霉菌发酵青霉素时, 发酵液中同时还存在头孢霉素。青霉素和头孢霉素的生物合成途径均已清楚, 在合成的开始阶段青霉素和头孢霉素有共同的前体, 它们是 3 个氨基酸: *L*- α -氨基己二酸 (*L*- α -aminoadipic acid)、半胱氨酸 (*L*-cystein) 和缬氨酸 (*L*-valine)。它们在氨基头孢烷酸 (ACV) 合成酶和 isopenicillin N 合成酶的作用下形成第一个有活性的共同前体物 isopenicillin N, 而后在合成路径上出现了分支, 在分支点上有一个重

要的“调节阀门”扩环酶 (DAOC synthase), 母核的五元环不扩大, 直接进入了青霉素合成, 如果扩大成为六元环, 则进入头孢霉素合成。因此, 目前人们利用基因工程方法, 增加扩环酶基因, 相当于将“调节阀门”打开, 同时利用基因工程方法使流向青霉素合成的基因“关闭”, 使头孢霉素的合成“流”加大, 既可增加头孢霉素的合成产量, 青霉菌经过这样的技术改造, 可以在工业上大量生产头孢霉素^[55-56]。同样头孢霉素也可以将侧链切掉, 获得母核, 然后再接上新的侧链, 获得半合成头孢霉素 (图 23)。

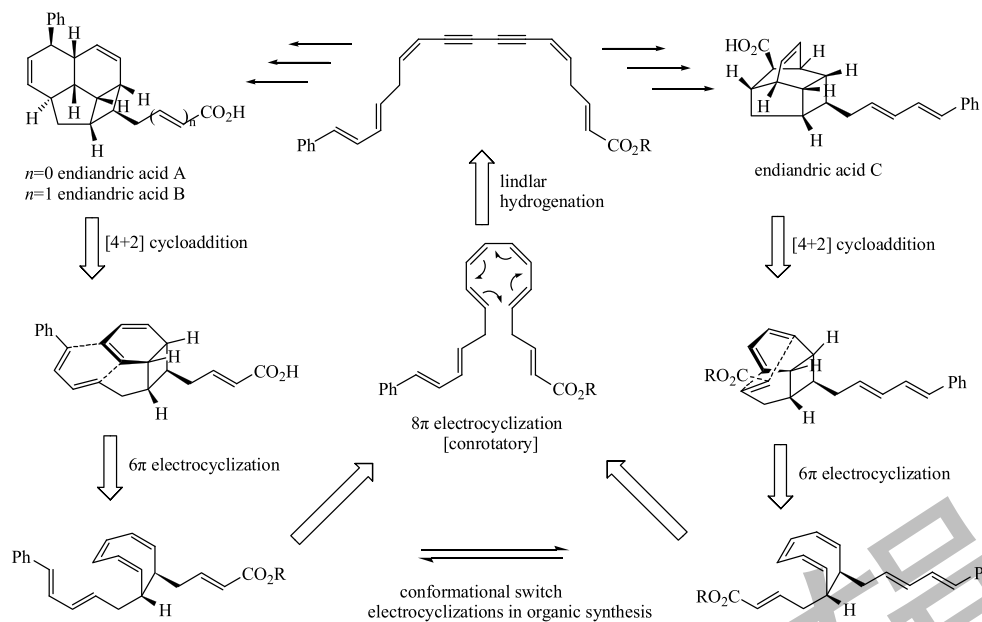


图 22 土楠酸 A~C 的合成路线

Fig. 22 Synthesis of endiandric acids A—C

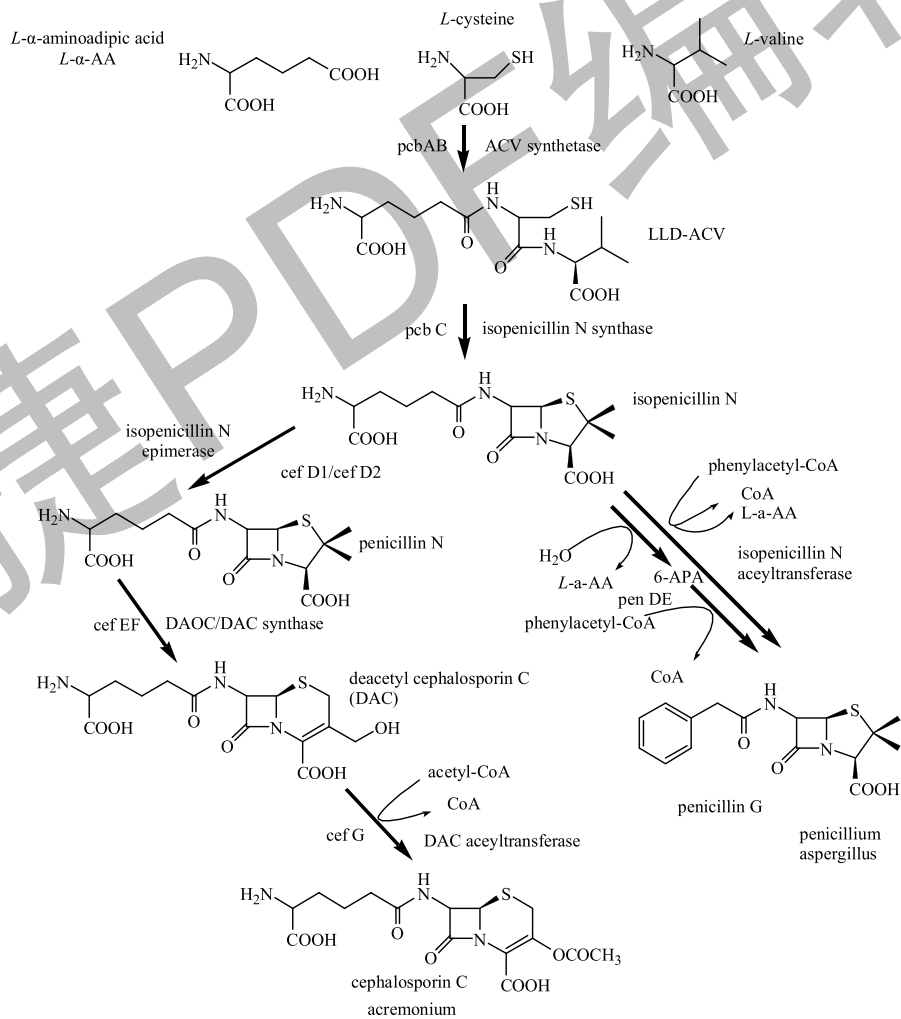


图 23 青霉素和头孢霉素的生物合成途径^[57]

Fig. 23 Biosynthetic pathways for penicillin and cephalosporin^[57]